Aus dem Pathologischen Institut der Universität Würzburg
Direktor: Professor Dr. med. H.-W. Altmann

ELEKTRONENMIKROSKOPISCH-MORPHOMETRISCHE UNTERSUCHUNG ÜBER DIE AUTOPHAGE DEGRADATION DES HEPATOCELLULÄREN ZYTOPLASMAS WÄHREND DES ENTWICKLUNGSWACHSTUMS DER RATTENLEBER

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n

verfaßt und der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Julius-Maximilians-Universität Würzburg
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von

Jürgen Pannenbecker

aus Moers/Niederrhein

Würzburg, den 2. Dezember 1981

1982

Aus dem Pathologischen Institut der Universität Würzburg
Direktor: Professor Dr. med. H.-W. Altmann

ELEKTRONENMIKROSKOPISCH-MORPHOMETRISCHE UNTERSUCHUNG ÜBER DIE AUTOPHAGE DEGRADATION DES HEPATOCELLULÄREN ZYTOPLASMAS WÄHREND DES ENTWICKLUNGSWACHSTUMS DER RATTENLEBER

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n

verfaßt und der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Julius-Maximilians-Universität Würzburg
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von

Jürgen Pannenbecker

aus Moers/Niederrhein

Würzburg, den 2. Dezember 1981

Referent: Professor Dr. U. Pfeifer
Korreferent: Professor Dr. H.-W. Altmann
Dekan: Professor Dr. K.-A. Bushe

Tag der mündlichen Prüfung: 25.2.1982

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität Würzburg

M E I N E N E L T E R N

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543526_0012

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
A. Einleitung	1
B. Material und Methoden	2
1. Versuchsanordnung	2
2. Gewebsaufarbeitung	3
3. Morphometrische Methoden	3
a) Lichtmikroskopie	3
b) Elektronenmikroskopie	6
C. Ergebnisse	13
1. Körpergewichte und Wachstumsraten der Versuchstiere	13
2. Volumenanteile der autophagen Vakuolen (A. V.) insgesamt am Zytoplasma	14
3. Anteile der einzelnen Komponenten der A. V. an der Gesamtmenge der A. V.	16
D. Diskussion	20
E. Zusammenfassung	28
F. Literaturverzeichnis	I

A. Einleitung

Mit der Entwicklung der elektronenoptischen Morphometrie (Weibel 1969) konnten auch so seltene Strukturen wie autophage Vakuolen quantifiziert werden (Pfeifer 1976 a, 1980), die als erste Stufe des intracellulären Abbaues zelleigener Bestandteile in Erscheinung treten. Die Stimulierung und Hemmung dieses lysosomalen Abbauweges ist ein wichtiger Mechanismus der Leberzellen zur Regulierung ihres Zellvolumens.

Für verschiedene Formen des Leberwachstums konnten morphologische Belege für eine Hemmung der cellulären Autophagie erbracht werden, beispielsweise für das restorative Wachstum bei Wiederfütterung nach Hungern (Pfeifer und Bertling 1977) oder für das regenerative Wachstum nach Teilhepatektomie (Pfeifer 1979).

Die postnatale Phase ist die Zeit starken Entwicklungswachstums, hieran sind mehrere, von biochemischer Seite gut untersuchte Mechanismen beteiligt (Hill und Malamud 1974, Goldberg und St. John 1976, Scornik und Conde 1977). Anfangs erhöht sich schnell die Zahl der Zellen durch Mitose und Polyploidisierung, später fällt die Mitoserate ab (Stöcker 1966, James et al. 1979). Die Proteinsynthese ist während dieser Wachstumsperiode gesteigert, der Proteinabbau hingegen vermindert (Scornik und Conde 1977). Morphologische Untersuchungen über den Gehalt an autophagen Vakuolen im Zytoplasma als ein Maß für lysosomale Abbauvorgänge sind bisher nur während der metabolischen Umstellungsphase in den ersten Stunden nach der Geburt durchgeführt worden.

Es schien deshalb von Interesse, die Beteiligung der cellulären Autophagie am weiteren Entwicklungswachstum zu analysieren und zu prüfen, ob die These "Wachstum durch Hemmung des autophagen Abbaus" auch durch Ergebnisse an der heranwachsenden Leber Unterstützung finden könnte.

B. Material und Methoden

1. Versuchsanordnung

48 neugeborene Sprague Dagley Ratten (Zuchtanstalt Wiga, Sulzfeld) wurden unter folgenden Standardbedingungen im Tierstall gehalten: Raumtemperatur 24° C, künstliches Licht von 7^{00} - 19^{00}, Dunkelheit von 19^{00} - 7^{00}. Die Jungtiere wurden bei der Mutter belassen und ernährten sich durch Säugen. Mit 12 - 14 Tagen begannen die jungen Ratten mit der Aufnahme fester Nahrung, einer Standarddiät (Hevilan ^{R}, Eggersmann, Rintelen, Deutschland) und Wasser ad libitum. In bestimmten Zeitabständen (5., 10., 20., 30., 40. und 50. Tag nach der Geburt wurden jeweils vier Tiere vormittags um 11^{00} und vier weitere Tiere nachts um 23^{00} gewogen und dann unter einer Äther-Narkose getötet.
Auf eine Gewichtsbestimmung der Rattenlebern wurde aus technischen Gründen verzichtet; Leber und Körpergewicht stehen in linearer Beziehung (Hagemann 1960); dieses erlaubt die Bezugnahme auf das Körpergewicht der Versuchstiere; im weiteren läßt sich aus einem so erstellten Somatogramm durch Interpolation die Kurve der Wachstumsraten in Prozent pro Zeiteinheit errechnen.

2. Gewebsaufarbeitung

Aus den Lebern wurden kleine Würfel von 1 mm^3 entnommen und mit einer bei Ph 7.2 durch Phosphat gepufferten 1,5 % OsO_4-Lösung durch Immersion fixiert. Nachdem das so fixierte Gewebe mit Äthanol dehydriert worden war, wurde es über Propylen-Oxyd in Epon 812 (Luft, I.H., 1961) eingebettet. So wurden von drei Blöcken Semidünnschnitte angefertigt; jeweils ein Block, der ein Periportalfeld enthielt, wurde für die Elektronenmikroskopie zugetrimmt. Mit lichtmikroskopischer Auswahl der Periportalfelder als gleiche Regionen der Leberläppchen geht eine Auswahl an Hepatozyten in die elektronenmikroskopische Untersuchung ein, die im Stoffwechsel weitgehend gleiche Aufgaben und Voraussetzungen haben. Diese Ultradünnschnitte mit einer Fläche von ungefähr $(0,3\ mm)^2$ wurden dann auf kleine Kupfernetze (Fa. Veco) gegeben, wodurch sie im Elektronenmikroskop in etwa gleichgroße quadratische Felder unterteilt wurden.

3. Morphometrische Methoden

a) Lichtmikroskopie

I. Bestimmung des Flächen- bzw. Volumenanteils des Hepatozytenplasmas

Da sich mit Heranwachsen der Ratten das für morphometrische Berechnungen wichtige Parenchym/Stromaverhältnis im Versuchszeitraum ändern könnte, wurden aus den Gewebsblöcken, die auch für die Elektronenmikroskopie zugetrimmt und angesehen wurden, Semidünnschnitte angefertigt und mit Silber kontrastiert.

Auf ein Schirmbildlichtmikroskop (Fa. Reichert, Österreich) wurde eine quadratische Folie befestigt, die durch 144 Punkte unterteilt wurde. Unter dieser

Folie wurde wiederum ein Parenchymbezirk neben einem Periportalfeld eingestellt. Die Fläche der Folie war durch 144 Punkte repräsentiert, gezählt wurden die im Quadrat vorkommenden Hepatozytenkerne wie auch die Zahl der Punkte über den Hepatozytenkernen und dem Interstitium. Durch Subtraktion der Punkte über den Kernen und dem Interstitium von der Gesamtpunktzahl ergab sich die Zahl der Punkte über dem Zytoplasma der Hepatozyten. Im weiteren wurde somit das Verhältnis der Punktzahl über dem Zytoplasma zur Gesamtpunktzahl bestimmt. Es ergab sich ein durchschnittlicher Flächen- (bzw. Volumen-) anteil des Zytoplasmas von 87,3 % (Standardabweichung 3,48).

II. Berechnung der Kernzahl/Einheitsvolumen Lebergewebe und des mittleren Zellvolumens/einkernigen Hepatozyten

Zur Berechnung des mittleren Zellvolumens bezogen auf einkernige Hepatozyten wurde die Formel nach Weibel und Gomez (1969) angewandt:

$$\frac{N_K}{V} = \frac{k'}{ß} \left(\frac{N_K/_A}{V_K/_V} \right)^{3/2 \cdot 1/2}$$

wobei ($^{N_K}/_A$) die Anzahl der Kernprofile pro Testfläche und ($^{V_K}/_V$) der Volumenanteil der Zellkerne pro Volumeneinheit ist. Im weiteren ist (ß) ein Formfaktor für Kugeln = 1,38 und (k′) ein Faktor der Größenverteilung in der Standardnormalverteilung. Diese Formel liefert die Anzahl der Zellkerne (N_K) pro Volumeneinheit (V).

Der Kehrwert dieser Formel liefert dann das Volumen pro Anzahl, das heißt in diesem Falle das Hepatozytenvolumen pro Zellkern:

$$\frac{V}{N_K} = \frac{ß}{k'} \sqrt{\frac{V_K/V}{(N_K/A)^3}}$$

Nach Weibel und Gomez (1969) kann aus dem Verhältnis P/P (Punkte/Gesamtpunkte) oder A/A (Fläche/Flächeneinheit) auf das Verhältnis V/V (Volumen/Volumeneinheit) geschlossen werden.

$$\frac{V}{N_K} = \frac{ß}{k'} \sqrt{\frac{P_K/P}{(N_K/P)^3}}$$

Nunmehr können die Ausdrücke der oben beschriebenen Messung am Schirmbildmikroskop in die Formel eingesetzt werden. Nach mathematischer Umformung ergibt sich:

$$\frac{V_{Hep.}}{N_K} = \frac{ß}{k'} \sqrt{\frac{\text{Punkte}_{Kern} \cdot (\text{Punkte}_{Gesamt})^2}{(\text{Anzahl Kernprofile})^3}}$$

Hierbei sind:

$V_{Hep.}$	die Volumeneinheit Hepatozyten
Punkte_{Kern}	die über einem Hepatozytenkern liegenden Punkte
Anzahl Kern-profile	die in dem aus 144 Punkten bestehenden Zähl-quadrat gezählten Hepatozytenkerne
Punkte_{Gesamt}	die über den Hepatozyten liegenden Punkte = 144 - Punkte Interstitium

Auf der Bildschirmfolie beträgt der Abstand der Punkte 1 cm; mit einem Eichmaßstab bestimmt, entspricht dies bei einer benutzten Vergrößerung von 7 550 x in einem untergelegten Präparat einer Strecke von 13,254 µm.
Es ergab sich ein Mittelwert für das Zellvolumen einkerniger Hepatozyten von 3,0 Volumeneinheiten; d. h. das Zellvolumen einkerniger Hepatozyten ist durchschnittlich durch 3,0 Punkte repräsentiert und beträgt somit 3,0 x $(13{,}254\ \mu m)^3$ = 6 984,9 μm^3.

b) Elektronenmikroskopie

I. Messung und Berechnung der Testflächen

Zur elektronenmikroskopischen Untersuchung wurde das Elmiskop I A. der Fa. Siemens bei einer Beschleunigungspannung von 60 KV benutzt; die Vergrößerungen wurden mit einem Eichmaßstab kontrolliert. Da selten vorkommende Strukturen, in diesem Falle autophage Vakuolen, quantifiziert und in Verhältnis zur Zytoplasmafläche gebracht werden sollten, waren große Testflächen nötig.
In der hier vorliegenden Arbeit wurden die interessierenden Zytoplasmafelder direkt unter dem Elektronenmikroskop vermessen (Pfeifer 1976 a, 1980). Die durch die Kupfernetze gegebenen Quadrate wurden zunächstbei einer Vergrößerung von 4 000 x auf ihre gewebliche Qualität und Kontrastierung hin überprüft; von jedem Versuchstier wurden dann sechs geeignete Quadrate für die Auswertung ausgewählt. Diese Quadrate sind aber nicht alle gleich groß; es ließe sich zwar ein Mittelwert bestimmen, jedoch entstünde dadurch eine Ungenauigkeit, da selten vorkommende

Strukturen wie in diesem Falle autophage Vakuolen in Verhältnis zur Zytoplasmafläche gebracht werden sollen. Durch die direkte Vermessung der einzelnen Flächen ließ sich diese Ungenauigkeit ausschalten. Die Eichung der Objekttischverschiebung wurde ausgehend von einem Eichmaßstab (28 800 lines per inch, Fullan, Connecticut, U.S.A.) mit dem Linienabstand $\underline{i}$ = 0,883 um vorgenommen. Über eine geometrische Messung wurde die Entfernung $\underline{d}$ bestimmt, die zurückgelegt wurde, wenn der Objektträger um eine Zählwerkseinheit bewegt wurde (siehe Abb. 1).
Es ergab sich ein $\underline{d}$ von 2,975 um; somit ließ sich bei einer unter dem Elektronenmikroskop in Zählwerkseinheiten gemessenen Strecke $\underline{i}$ die gesuchte Größe in um ermitteln.
Nach Multiplikation mit $\underline{d}^2$ erhielt man die Testflächen in μm^2, durch weitere Multiplikation mit dem lichtmikroskopisch ermittelten Zytoplasmaanteil (87,3 %) ließ sich schließlich die Zytoplasmafläche der ausgewählten Quadrate errechnen. Diese diente als Bezugsgröße für den Anteil der A.V. und bewegte sich zwischen ca. 36 000 - 44 000 μm^2 je untersuchtem Tier.

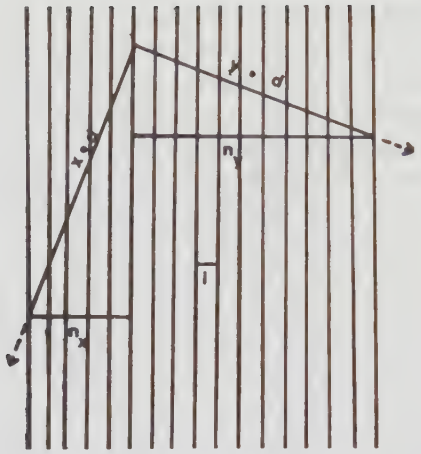

Abb. 1 zeigt die geometrische Grundlage zur Bestimmung der Entfernung d, um die der Objektträger bewegt wird, wenn er von einer Zählwerkseinheit zur nächsten wechselt. Die dünnen senkrechten Linien repräsentieren die Linien des Eichmaßstabes mit dem Abstand i.
(Zeichnung nach Pfeifer 1976 a)

II. Begriffsbestimmung der cellulären Autophagie

Als celluläre Autophagie bezeichnet man den lysosomalen Abbau zelleigener Strukturen. Das erste Stadium ist die sogenannte Segregation einer Zytoplasmaportion vom übrigen Zytoplasma mittels einer Membran.Das so entstandene Autophagosom fusioniert mit einem Lysosom, sodaß jetzt die lysosomalen Enzyme in Kontakt treten. Diese bewirken im weiteren einen Abbau der Zytoplasmaportion. Morphologisch zu definieren ist die autophage Vakuole als Stadium, in dem die Zytoplasmastrukturen noch zu identifizieren sind. In den Stadien der zunehmenden Degradation entstehen sogenannte Telolysosomen (De Duve und Wattiaux, 1966), deren Herkunft morphologisch nicht mehr bestimmt werden kann.

Als autophage Vakuolen wurden nur solche Vakuolen bei der Durchsicht der Präparate für die quantitative Auswertung berücksichtigt, deren Inhalt einwandfrei als Glycogen, Mitochondrion, endoplasmatisches Retikulum oder als Mikrobody zu identifizieren war (siehe Abb. 2).

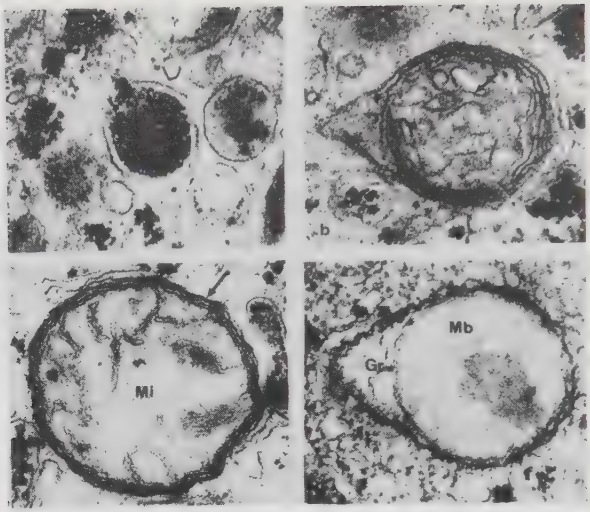

Abb. 2 Elektronenmikroskopische Aufnahmen von autophagen Vakuolen verschiedenen Inhalts aus Rattenleberzellen des Versuches, Nachkontrastierung mit Bleisalz. (a) zeigt von einer Membran segregiertes Glycogen, Vergrößerung 75 600 x. In (b) sind als Inhalt der autophagen Vakuole neben zytoplasmatischer Grundsubstanz die Membranen des E. R.(⟵) zu erkennen, Vergr. 84 600 x. In (c) legt sich der inneren und äußeren Mitochondrienmembran noch die segregierende Membran an (⟵), Vergr. 40 200 x. (d) zeigt einen autophagierten Mikrobody (Mb) nebst etwas zytoplasmatischer Grundsubstanz (Gr), Vergr. 75 600 x.

III.Quantitative Auswertung der autophagen Vakuolen

Die jeweils sechs Zählquadrate/Versuchstier wurden bei einer Vergrößerung von 6 000 x mit einer binokularen Lupe auf autophage Vakuolen hin durchgesucht; diese dann getrennt nach verschiedenem Inhalt registriert. Um ihre Profilfläche (A) zu ermitteln, wurden zwei Durchmesser (a,b) bei einer geeigneten Vergrößerung von 9 200 x direkt mit einer sich in der Lupe befindlichen Millimeterskala vermessen. Da es sich bei den zu vermessenden Strukturen um runde bis ovale Formen handelt, läßt sich die Fläche berechnen nach

$$A = a \cdot b \cdot \frac{\pi}{4}$$

Hier muß aber noch berücksichtigt werden, daß die Bildfläche, um sie mit der binokulären Lupe betrachten zu können, schräg zum auftreffenden Strahl steht. Die auftretende Verzerrung muß durch zwei Faktoren fa und fb auf die wahren Durchmesser a und b der autophagen Vakuolen korrigiert werden.
Diese Faktoren wurden empirisch durch Ausmessen einer genügend großen Zahl von Durchmessern gefunden. Daraus folgt:

$$A = \frac{a}{fa} \cdot \frac{b'}{fb} = a' \cdot b' \frac{\pi}{4\ fa \cdot fb} = a' \cdot b' \cdot 0{,}639$$

(Pfeifer 1976)

Man erhält die Fläche der vermessenen A.V. in μm^2 durch:

$$A = a' \cdot b' \cdot \frac{0{,}639}{9\ 200^2} \cdot \frac{1}{1\ 000}$$

$$A = a' \cdot b' \cdot \frac{0{,}639}{0{,}92^2 \cdot 100} = 0{,}0075496 \cdot a' \cdot b'$$

Die für die einzelnen segregierten Zellorganzellen und für das segregierte Glycogen berechneten Flächenwerte wurden wiederum im einzelnen durch die Flächenwerte(A) des zugehörigen Zytoplasmas dividiert:

$$\frac{A \text{ segregiertes Material}}{A \text{ Zytoplasma}}$$

In diesem Zusammenhang kann im weiteren von Volumenfraktionen gesprochen werden, da die durchgesehenen Zytoplasmaareale im Hinblick auf die Orientierung der Gewebsproben im Raum randomisiert sind. Die erfaßten Flächenanteile der A.V. repräsentieren auch ihre Volumenanteile (Weibel 1969).Diese Quotienten wurden als Funktion der Zeit nach der Geburt aufgetragen, getrennt nach der Uhrzeit der Tötung der Versuchstiere.

C. Ergebnisse

1. Körpergewichte und Wachstumsraten der Versuchstiere

Die Jungtiere nehmen im Untersuchungszeitraum nahezu linear an Gewicht zu, wobei die Gewichte der einzelnen Tiere nicht sonderlich um die jeweiligen Mittelwerte schwanken. Die Aktivität des Körperwachstums wird durch die Wachstumsraten, berechnet als jeweilige Gewichtszunahmen in fünftägigem Abstand, charakterisiert. Diese ist in der Zeit vom 5. - 10. Tag mit einem prozentualen Gewichtszuwachs von ca. 75 % am größten, steigt zum 25. Lebenstag noch einmal auf ca. 62 % an, um dann zum 50. Tag hin stetig abzunehmen (siehe Abb. 3).

2. Volumenanteile der autophagen Vakuolen (A.V.) insgesamt am Zytoplasma

In den ersten Tagen nach der Geburt sind bei den Tieren nahezu keine autophagen Vakuolen zu finden. Jedoch scheinen die Tiere auch hier grundsätzlich in der Lage, größere Mengen des Zytoplasmas mittels autophager Degradation abzubauen. Denn bei einzelnen Tieren findet man bereits am 5. und 10. Tag Spitzenwerte für den Volumenanteil der A.V., wie sie sonst bei erwachsenen Tieren beobachtet werden. Somit sind gerade bis zum 20. Tag nach der Geburt sehr ausgeprägte Schwankungen der Einzelwerte festzustellen (Abb. 4, Tabelle 1).

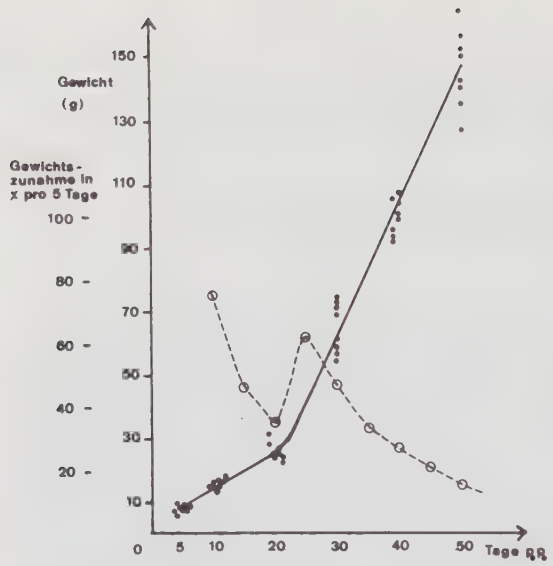

Abb. 3 zeigt die Körpergewichte der einzelnen Tiere der Versuchsreihe zum Zeitpunkt ihrer Tötung, gezeichnet als kleine Punkte, sowie ihre Wachstumsraten, gezeichnet als größere Kreise.

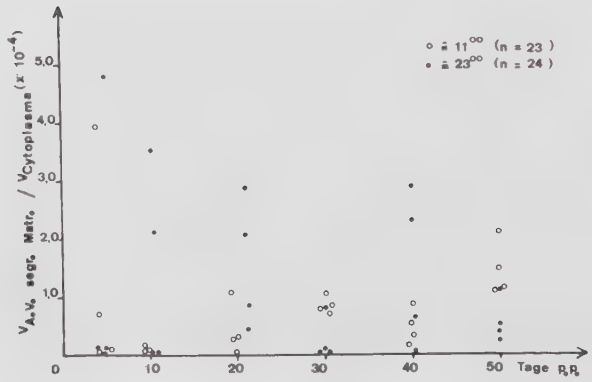

Abb. 4 : Volumenanteile der A.V. insgesamt am Zytoplasma der Leberzellen vom 5. - 50. Tag nach der Geburt.

Tage p.p.	Tageszeit	Mittelwert	relative Standardabweichung
5	11^{00}	1,193	154,9 %
5	23^{00}	1,262	189,0 %
10	11^{00}	0,041	63,4 %
10	23^{00}	1,479	120,8 %
20	11^{00}	0,426	106,0 %
20	23^{00}	1,573	71,5 %
30	11^{00}	0,826	17,3 %
30	23^{00}	0,238	151,2 %
40	11^{00}	0,475	68,8 %
40	23^{00}	1,503	93,1 %
50	11^{00}	1,471	27,7 %
50	23^{00}	0,655	57,1 %

Tabelle 1 zeigt die Mittelwerte der Volumenanteile der A. V. insgesamt am Zytoplasma der Leberzellen, zusammengefaßt für die einzelnen Untersuchungstage und Tageszeiten. Das Maß der Schwankungen der Einzel- um die jeweiligen Mittelwerte wird durch die relativen Standardabweichungen charakterisiert.

Bis zum 40. Tag p. p. lassen sich keine systematischen Unterschiede der Tag- und Nachtwerte des Volumenanteils der A. V. am Zytoplasma erkennen (Abb. 5). Die für ausgewachsene Tiere bekannte circadiane Rhythmik bewirkt eine Verstärkung der autophagen Tätigder Leberzellen in der Hellphase und eine Abschwächung in der Dunkelphase, was in der vorliegenden Versuchsserie nur für den 30. und den 50. Tag nach der Geburt gilt. Dagegen liegen noch am 40. Tag die nachts ermittelten Werte höher als die bei den tags getöteten Tieren.

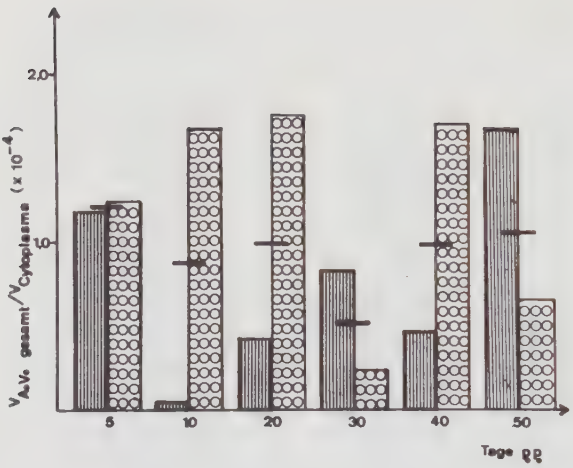

Abb. 5: graphische Darstellung der Mittelwerte der Volumenanteile der A. V. insgesamt am Leberzellzytoplasma, aufgetragen nach Lebenstagen der Tiere nach der Geburt und Uhrzeit ihrer Tötung. Die Säulen der vormittags erstellten Werte sind schraffiert, die der nachts erstellten mit Kreisen gefüllt gezeichnet, wobei jeweils vier Tiere einen Mittelwert bilden (nur am 10. Tag 11^{00} n = 3). Die eingezeichneten Balken markieren die entsprechenden Mittelwerte des gesamten Tages (hier n = 8).

3. Anteile der einzelnen Komponenten der A. V. an ihrer Gesamtmenge

Die quantitative Zusammensetzung der Gesamtmenge der autophagen Vakuolen ist während des Untersuchungszeitraumes für die einzelnen Komponenten unterschiedlich. Einen Überblick über die verschiedenen Anteile der einzelnen Komponenten der A. V. am Zytoplasma der

Leberzellen und an der Gesamtmenge der A. V. geben die Tabellen 2 und 3. In Abb. 6 sind die Werte der einzelnen Tiere für das in A. V. segregierte Glycogen aufgeführt. Der Anteil der in A. V. eingeschlossenen Mitochondrien bleibt nahezu konstant, bildet einen Mittelwert von 26,7 % am gesamten autophagierten Material und liegt nur unwesentlich unter dem entsprechenden Wert ausgewachsener Tiere (31,6 %). Während der Anteil des autophagierten endoplasmatischen Retikulums unter dem Versuch von 70,3 % am 5., 10., 20. Tag auf 51,8 % am 30., 40. und 50. Tag abnimmt, steigt der Anteil des Glycogens am Inhalt der A. V. während dieser Perioden von 2,6 % auf 17,2 % an.

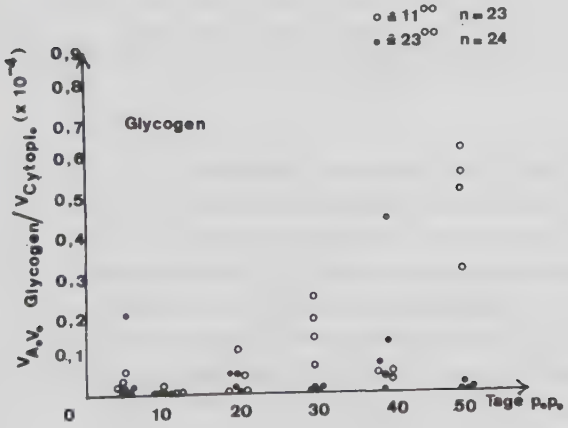

Abb. 6 zeigt die Einzelwerte des in A. V. segregierten Glycogens. In den ersten 20 Tagen wird kaum Glycogen über den lysosomalen Weg abgebaut.

Auch tendieren die Anteile dieser beiden letztgenannten Komponenten zum Ende des Untersuchungszeitraumes zu einer Annäherung an die Werte ausgewachsener Kontrolltiere, die bei anderen Versuchen gemessen wurden.

Bis zum 30. Tag p. p. traten die Mikrobodies als Inhalt autophager Vakuolen vermindert auf, am 40. - 50. Tag erreichen auch ihre Werte die Größenordnung ausgewachsener Tiere.

	Tage post partum						
	5	10	20	30	40	50	ausgewachs. Tiere
$Vol._{A.V.\ Mb.}$ /$Vol._{A.V.\ Total}$	0,6%	0,0%	3,9%	1,6%	5,8%	2,1%	3,9%
$Vol._{A.V.\ Mito.}$/$Vol._{A.V.\ Total}$	19,8%	31,2%	25,5%	34,8%	24,5%	24,3%	31,6%
$Vol._{A.V.\ Gly.}$ /$Vol._{A.V.\ Total}$	3,7%	0,3%	3,8%	16,2%	10,6%	24,7%	21,3%
$Vol._{A.V.\ E.R.}$ /$Vol._{A.V.\ Total}$	75,8%	68,5%	66,8%	47,4%	59,1%	48,9%	43,1%

Tabelle 2: Anteile der einzelnen Komponenten der A. V. an der Gesamtmenge der A. V.. Zum Vergleich dazu die entsprechenden Werte ausgewachsener Tiere (Mb = Mikrobodies, Mito = Mitochondrien, Gly. = Glycogen, E.R. = endoplasmatisches Retikulum). Vergleichswerte der ausgewachsenen Tiere nach Pfeifer und Bertling (1977) und nach Pfeifer (1979)

	Tage post partum					
	5	10	20	30	40	50
$Vol._{A.V.\ Mb.}$ /Cytoplasma	0,008	0,000	0,040	0,009	0,058	0,023
$Vol._{A.V.\ Mito.}$ /Cytoplasma	0,244	0,273	0,258	0,186	0,241	0,258
$Vol._{A.V.\ Gly.}$ /Cytoplasma	0,046	0,003	0,038	0,086	0,105	0,263
$Vol._{A.V.\ E.R.}$ /Cytoplasma	0,931	0,600	0,673	0,256	0,585	0,520

Tabelle 3: Anteile der einzelnen Komponenten der A. V. am Zytoplasma der Leberzellen junger Ratten vom 5. - 50. Tag nach der Geburt (alle Werte x 10^{-4}, Mb = Mikrobodies, Mito = Mitochondrien, Gly = Glycogen, E.R. = endoplasmatisches Retikulum).

D. Diskussion

Das extrauterine Leben beginnt mit einer metabolischen Umstellungsphase, in der die Leber als zentrales Stoffwechselorgan unter anderem für eine Aufrechterhaltung der Euglykämie zu sorgen hat. Dazu werden die in den letzten Tagen vor der Geburt stark gefüllten Glycogenspeicher herangezogen; der Glycogengehalt der Leber fällt perinatal drastisch ab (Thurber R. R., Nims L. F. 1962, Dawkins M. J. R., 1963). Dieser Glycogenabbau ist auch morphologisch faßbar; in der Leberzelle wird in den ersten 6 Stunden post partum verstärkt Glycogen in autophagen Vakuolen segregiert (Phillips 1967, Kotoulas und Phillips 1971). In wie weit auch andere Organellen in dieser Phase vermehrt in A. V. auftreten, ist bisher noch nicht geprüft. Im weiteren sind in den Stunden nach der Geburt die Enzyme der Gluconeogenese erhöht, diese kann aber eine hypoglycämische Phase ca. 4 Std. p. p. nicht verhindern.

Wie Messungen der Insulin- und Glucagonkonzentrationen im Blut während der perinatalen Phase ergaben, wird die metabolische Umstellung reguliert durch einen starken Abfall des Insulinspiegels zusammen mit einem stark angestiegenen Glucagonspiegel (Blazquez E. und Sugase T. 1975).
Nach dieser Anpassung an das extrauterine Leben nahmen die jungen Ratten im Einklang mit den Werten in der Literatur (Hagemann, 1960) besonders in den ersten 30 - 50 Tagen mit großen Wachstumsraten an Gewicht zu.

Während dieser Zeit sind Insulin und Glucagon in ihren Wirkungen nicht unbedingt Antagonisten; nach Armato et al. (1979) bewirken Insulin und Glucagon synergistisch eine Steigerung der DNS-Synthese der Leberzellen neugeborener Ratten. Auch die Proteinsynthese ist gesteigert; Skornik und Conde (1977) zeigten mit ^{14}C - markiertem Leucin an Mäuselebern, daß einerseits die neonatale Leber 1,4 x mehr Protein synthetisiert als erwachsene Tiere, anderseits die biochemisch nachweisbare Proteindegradation nur 56 % der Werte bei erwachsenen Tieren betrug.

Die Leberzelle ist befähigt, die Proteindegradation auf einem lysosomalen und einem extralysosomalen Wege vorzunehmen (Skornik O. A. und Botbol U., 1976, Pfeifer U., 1979). Nach den Ergebnissen der Versuche über das kompensatorische Wachstum nach Teilhepatektomie wird für beide Abbauwege ein Anteil von jeweils ca. 50 % am Proteinabbau angenommen (Pfeifer U., 1979). Die Proteindegradation in einem Organ läßt sich morphologisch und biochemisch charakterisieren; während mit der Morphometrie der autophagen Vakuolen Aussagen über die Aktivität des lysosomalen Abbaus getroffen werden können, werden mit biochemischen Methoden beide beschriebenen Abbauwege erfaßt. So werden in der biochemischen Literatur nach Goldberg und St. John (1976) je nach Zusammenhang zwei austauschbare Definitionen angewandt: zum einen wird unter der Abbaurate gerade die Rate der gelösten Peptidbindungen verstanden, die zum Verlust eines erkennbaren Proteins führt. Zum anderen - und in diesem Zusammenhang sinnvoll - ist die Definition, daß sich bei der Bestimmung von abgebauten Zellpro-

teinen oder der Aktivität proteolytischer Enzyme der Begriff Proteindegradation auf die Rate der entstehenden freinen Aminosäuren bezieht.
Nach Neely A. N. und Mortimore G. E. (1974) haben Leberlysosomen einen hohen Gehalt an säurelöslichem Material, welches durch die Hydrolyse von Leberproteinen freigeworden zu sein scheint. Dies deutet also auf eine in diesen Organellen stattfindende Proteinhydrolyse hin. Somit ist es wahrscheinlich, daß auch die Strukturproteine der in A. V. segregierten Mitochondrien und des endoplasmatischen Retikulums in diese intralysosomale Hydrolyse einfließen.
Biochemisch nachweisbare intracelluläre Proteindegradation und das Auftreten autophager Vakuolen verhalten sich unter verschiedenen experimentellen Bedingungen gleich: die Gabe von Glucagon stimuliert (biochemisch: Miller, 1960, Woodside et al., 1974, morphologisch: Deter, 1971, Ashford und Porter, 1962), während die Gabe von Insulin (biochem.: Mortimore und Mondon, 1970, morphol.: Amherdt et al., 1974, Pfeifer, 1978) das Auftreten beider Phänome hemmt. Ebenso sind bei Versuchen nach partieller Hepatektomie (biochem.: Skornik, 1972, Skornik und Botbol, 1976, Hill und Malamund, 1974, Swick und Ip, 1974, morphol.; Pfeifer, 1976 a und 1979) und Wiederfütterung nach Hungerzustand (biochem.: Conde und Skornik, 1976, Amils et al., 1977, morphol.: Pfeifer und Bertling, 1977) in der dann folgenden Phase der Regeneration Proteinabbau wie auch das Auftreten autophager Vakuolen stark reduziert.

Nun fallen bei den Ergebnissen der hier vorliegenden Arbeit die hohen Schwankungen der Werte für autophage Vakuolen insbesondere in den ersten Lebenstagen der Jungtiere auf. Dies beweist die Befähigung ihrer Leberzellen zur cellulären Autophagie in Grössenordnungen erwachsener Tiere und ergänzt somit die Ergebnisse von Phillips et al. (1967) und Kotoulas und Phillips (1971), die glycogenhaltige A. V. in den Leberzellen neugeborener Ratten nachwiesen.
Als mögliche Gründe für das starke Schwanken der Werte der segregierten Volumenfraktionen im Untersuchungszeitraum sind anzusehen: erstens ein zumindest bis zum 40. Lebenstag noch nicht bestehender Tag/Nacht-Rhythmus der cellulären Autophagie, sodaß zur gleichen Tageszeit sowohl Tiere mit nahezu vollständig gehemmter als auch maximal gesteigerter Autophagie angetroffen werden.
Zweitens könnten die Leberzellen zum Zwecke der kurzfristigen Substratbereitstellung einen Abbau von Zellorganellen über den lysosomalen Weg betreiben.
Eine unbedeutendere Rolle dürften unterschiedliche Bedingungen der Nahrungsaufnahme spielen (z. B. die Umstellung vom Säugen auf festes Futter). Kurzfristige Hungerreaktionen als mögliche Ursache einer verstärkten Autophagie, bei denen vermehrt endoplasmatisches Retikulum als Inhalt der A. V. auftritt (Pfeifer, unveröffentlichte Beobachtung), sind allerdings im vorliegenden Versuch nicht mit Sicherheit auszuschliessen. Längerfristige Hungerreaktionen mit einer Gewichtsabnahme einzelner Tiere dürften kaum zu einer verstärkten Autophagie der Hepatozyten führen, da keines der Versuchstiere mit seinem Körpergewicht stärker von den entsprechenden Mittelwerten abweicht.

Die Autophagie bei Tieren im postnatalen Wachstum unterscheidet sich vom ausgewachsenen Zustand hinsichtlich der prozentualen Zusammensetzung des segregierten Materials durch seine einzelnen Inhaltskomponenten (siehe Tab. 2).
Während sich die Zellorganellen bei manchen Tieren in den ersten 20 Tagen p.p. stark gehäuft in A. V. finden und somit - auch im Vergleich mit ausgewachsenen Tieren - durchschnittlich verstärkt dem lysosomalen Abbau anheim fallen, wird in dieser Zeit nur verschwindend wenig Glycogen in den A. V. angetroffen (im Mittel nur ca. 1/7 der Werte erwachsener Tiere, siehe auch Abb. 6). Der Grund hierfür ist nicht etwa in einer selektiven Hemmung des Glycogenabbaues zu sehen, sondern im geringen Gehalt der Leber an Glycogen in diesen ersten 20 - 30 Lebenstagen. Denn nach dem fast vollständigen Verbrauch des Glycogens in der perinatalen Umstellungsphase nimmt die Leberzelle nur sehr langsam wieder Glycogen in ihre Speicher auf (Thurber, R. E. und Nims L.F., 1962, sowie Burch H., 1965). Der Glycogengehalt beträgt im Vergleich zu ausgewachsenen Tieren am 10. Tag p. p. nur die Hälfte, während am 30. Tag p.p. die Glycogenspeicher der Leberzellen auf das ca. 1 1/2-fache angefüllt sind (Brodskaya N. J., 1964). Auch ist der Umsatz des Glycogens nach Messungen mit ^{14}C-markierter Glucose (Brodskaya N. J., 1964) zu diesem Zeitpunkt am größten, während er bei ausgewachsenen Tieren am niedrigsten ist.
Nun ließe sich angesichts des hohen Glycogengehaltes und metabolischen Umsatzes am 30. Tag auch ein gesteigerter lysosomaler Glycogenabbau erwarten. Obwohl das Glycogen zu dieser Zeit mit durchschnittlich 16,2 % Volumenanteilen am Gesamtvolumen schon annäh-

ernd den Durchschnittswert ausgewachsener Tiere erreicht, so müßte dennoch ein im Rahmen des vermehrten metabolischen Umsatzes gesteigerter Glycogenabbau einem extralysosomalen Wege zugeschrieben werden.

Nach Pfeifer (1972 a) ist eine gemeinsame Regulation des hyaloplasmatischen (extralysosomalen) und des lysosomalen Glycogenabbaues abzulehnen. Somit ist auch in der postnatalen Wachstumsphase der lysosomale Glycogenabbau als Teilphänomen der cellulären Autophagie insgesamt anzusehen.
Während der Anteil der Mitochondrien mit ca. 26 % im Mittel dem Wert der ausgewachsenen Tiere entspricht, beträgt der Anteil der des endoplasmatischen Retikulums in den ersten Lebenstagen der Jungtiere ca. 70 %, um dann zum Ende des Untersuchungszeitraumes mit 51 % nahe zum Durchschnittswert ausgewachsener Tiere (43 %) abzufallen.
Warum somit das endoplasmatische Retikulum gegenüber den Mitochondrien stärker zum lysosomalen Abbau und damit zur Substratbereitstellung herangezogen wird als bei ausgewachsenen Tieren, konnte im Rahmen dieser Untersuchung nicht weiter geklärt werden.

Was schließlich die Mikrobodies, über deren Funktion noch sehr wenig bekannt ist, als letzter Bestandteil autophager Vakuolen bei dieser Untersuchung angeht, so kann nur festgestellt werden, daß Mikrobodie-haltige A. V. in den ersten vier Lebenswochen mit geringeren Volumenanteilen am Leberzellzytoplasma als im späteren Untersuchungszeitraum auftreten.

Insgesamt geht das postnatale Entwicklungswachstum auch bei hohen Wachstumsraten der Jungtiere mit stark

schwankenden Werten der autophagen Zytoplasmadegradation einher. Während jedoch beim regenerativen und restorativen Wachstum eine vermehrte Syntheseleistung zusammen mit einer biochemisch nachweisbaren Hemmung des Proteinabbaus (Goldberg und St. John, 1976) als auch einer morphologisch festzustellenden Hemmung autophager Proteindegradation (Pfeifer, 1979) das Zytoplasmavolumen regeln, scheint also beim postnatalen Entwicklungswachstum die Hemmung des Proteinabbaues über den lysosomalen Weg nur eine untergeordnete Rolle zu spielen.
Als wesentliche Prinzipien sind bei dieser Wachstumsform eine vermehrte Proteinsynthese sowie eine Hemmung mutmaßlich der extralysosomalen Proteindegradation anzusprechen.

Die Manifestation eines deutlichen circadianen Rhythmus der cellulären Autophagie, wie er für ausgewachsene Tiere bekannt ist (Pfeifer, 1971, 1972, 1973) muß nach den Ergebnissen dieser Arbeit nach dem 40. Lebenstag datiert werden und prägt sich damit im Vergleich zu anderen Regelsystemen des Organismus später aus, kurz vor Erreichen der Geschlechtsreife (Beginn bei männlichen Tieren 47. - 61. Tag, bei weiblichen 42. - 61. Tag, nach Hagemann 1960). Dieser Zeitraum liegt mindestens 20 - 30 Tage nach der Phase, in der die Jungtiere die Augen zu öffnen beginnen (12. - 14. Tag p. p.). Danach können die Licht- und Dunkelphasen als äußere Zeitgeber angesprochen werden. Während andere Regelsysteme ca. 8 - 10 Tage nach der Augenöffnung bereits eine circadiane Rhythmik annehmen, z. B. das Leberenzym Tyrosin-aminotransferase (Osawa et al, 1972) sowie der Plasmacorticosteronspiegel (Allen C., 1967) oder der Gehalt des Gehirns

an Noradrenalin und Serotonin (Asano und Kendall J., 1971), dürften den Licht- und Dunkelperioden bei der Manifestation der circadian-rhythmischen cellulären Autophagie der Leberzellen nur ein mittelbarer Einfluß zukommen.
Über die weiteren Faktoren, die die Manifestation der verschiedenen tageszeitlich abhängigen Regelsysteme - gerade auch in der postnatalen Entwicklungszeit - begünstigen oder verzögern, herrscht noch weitgehend Unklarheit.

E. Zusammenfassung

Bei 47 jungen Ratten, die im Zeitraum vom 5. bis zum 50. Tag nach der Geburt in Gruppen zu je 4 Tieren zu bestimmten Tages- und Nachtzeiten getötet worden waren, wurde mit großen Testflächen von ca. 40 000 um^2 pro Versuchstier das periportal gelegene Leberparenchym elektronenoptisch - morphometrisch auf autophage Vakuolen hin untersucht.

Schon in den ersten Tagen nach der Geburt sind die Jungtiere befähigt, größere Mengen des Zytoplasmas der Leberzellen mittels autophager Degradation abzubauen. Bei der Mehrzahl der Tiere wurden bis zum 20. Tag p. p. niedrige Werte für den Anteil der A. V. am Zytoplasma gemessen, bei einigen Tieren Spitzenwerte wie bei erwachsenen Tieren.

Im Verlauf der Untersuchung ändern sich die Anteile einiger Inhaltskomponenten an der Gesamtmenge der A. V.: auffällig ist eine Abnahme des Anteils des E. R. nach dem 20. Tag p. p.; die Anteile des in A. V. eingeschlossenen Glycogens sowie der Mikrobodies erreichen nach diesem Zeitpunkt die Größenordnung erwachsener Tiere. Die Mitochondrien bilden in den ersten 50 Tagen nach der Geburt einen konstanten, den Werten erwachsener Kontrolltiere nahekommenden Anteil.

Die Manifestation einer deutlichen circadianen Rhythmik der cellulären Autophagie muß nach dem 40. Lebenstag und somit kurz vor Erreichen der Geschlechtsreife der Tiere datiert werden. Das postnatale Entwicklungswachstum geht auch bei hohen Wachstumsraten der Jungtiere mit besonders in den ersten Wochen nach der

Geburt mit stark schwankenden Werten der autophagen Zytoplasmadegradation einher; somit dürfte einer Hemmung des Proteinabbaues über den lysosomalen Weg bei der Regulierung des Zytoplasmavolumens nur eine untergeordnete Rolle zukommen. Als wesentliche Prinzipien wären bei dieser Wachstumsform eine vermehrte Hemmung vornehmlich der extralysosomalen Proteindegradation anzusprechen.

E. L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

ALLEN, C., KENDALL, I. W.: Maturation of the circadian rhythm of plasma corticosteron in the rat. Endocrinology 80, 927-930 (1967)

AMHERDT, M., HARRIS, V., RENOLD, A.E., ORCI, L., UNGER, R. H.: Hepatic autophagy in uncontrolled experimental diabetes and its relationships to insulin and glucagon. J. clin. Invest. 54, 188-193 (1974)

AMILS, R., CONDE, R.D., SKORNIK, O.A.: Effect of a nutritional shift on the degradation of abnormal proteins in the mouse liver, decreased degradation during rapid liver growth. Biochem. J. 164, 363-369 (1977)

ARMATO, U., DRAGHI, E., ANDREIS, P.: Effect of glucagon and insulin on the browth of neonatal rat hepatocytes in primary tissue culture. Endocrinology 102, (4), 1155-1166 (1979)

ASANO, Y.: The maturation of the circadian rhythm or brain norepinephrine and serotonin in the rat. Life Sciences, Vol. 10, part I, 883-894 (1971)

ASHFORD, T.P., PORTER, K.R.: Cytoplasmic components in hepatic cell lysosomes. J. Cell Biol. 12, 198-202 (1962)

BLAZQUEZ, E., SUGASE, T., BLAZQUEZ., M.: Neonatal changes in the concentration of rat liver cyclic AMP, and of serum glucose, free fatty acids, insulin, pancreatic and total glucagon in man and in the rat. J. Lab. Clin. Med. 83, (6), 957-965 (1965)

BRODSKAYA, N. J.: Metabolism of glycogen-fractions in brain and liver of rats of different ages. Fed. Proc. 23, 1299-1302 (1964)

BURCH, H. B.: Substrates of carbohydrate metabolism and their relation to enzyme levels in liver from rats of varios ages. Advances in Enzyme Regulation, Vol. 3, 185-197 (1965)

CONDE, R.D. und SKORNIK, O. A.: Role of protein degradation in the growth of livers after a nutritional shift. Biochem. J. 158, 385-390 (1976)

DAWKINS, M. J. R.: Glycogen synthesis and breakdown in fetal and newborn rat liver. Ann. N. Y. Acad. Sci. 111, 203-211 (1963)

DE DUVE, C. und WATTIAUX, R.: Functions of lysosomes. Annu. Rev. Physiol. 28, 435-492 (1966)

DETER,R. L.: Quantitative characterization of dense body, autophagic vacuole, and acid phosphatase-bearing particle populations during the early phases of glucagon-induced autophagy in rat liver. J. Cell Biol. 48, 473-489 (1971)

GOLDBERG, A. L. and ST. JOHN, A. C.: Intracellular protein degradation in mammalian and bacterial cells: part 2.
Ann. Rev. Biochem. 45, 747-803 (1976)

HAGEMANN, E.: Ratte und Maus, Versuchstiere in der Forschung
Walter de Gruyter & Co.,Berlin 1960

HILL, J. M., MALAMUD, D.: Decreased protein catabolism during stimulated growth.
FEBS Lett. 46, 308-311 (1974)

JAMES, J.,TAS, Joh., BOSCH, K. S., DE MEERE, A. J. P. and SCHUYT, H. Cl.: Growth patterns of rat hepatocytes during postnatal development.
European Journal of Cell Biology 19, 222-226 (1979)

KOTOULAS, O. B., PHILLIPS, M. J.: Fine structural aspects of the mobilization of hepatic glycogen.
Am. J. Path. Vol. 63, No. 1 (1971)

LUFT, J. H.: Improvements in epoxy resin embeddings methods.
J. biophys. biochem. Cytol. (9), 409

MEGO, J. L.: Further evidence for a proton pump in mouse kidney phagolysosomes: Effect of nigericin, and 2,4-Dinitrophenol on the stimulation of intralvsosomal proteolysis by ATP.
Biochem. Biophys.Res. Commun. 67, 571-575 (1975 b)

MILLER, L.L.: Glucagon: a protein, catabolic hormone in the isolated perfused rat liver. Nature 185-248 (1960)

NEELY, A.N.NELSON, P.B. and MORTIMORE, G.E.: Osmotic alterations of the lysosomal system during rat liver perfusion: reversible suppression by insulin and amino acids. Biochem. Biophys. Acta 388, 107-121

OSAWA, K., ABE, T., MATO, Y., HOSOYA, N.: Development of circadian rhythm of hepatic tyrosine-aminotransferase in growing rats. Life Sciences Vol. 11, part I, 693-700 (1972)

PFEIFER, U.: Probleme der cellulären Autophagie. Morphologische, enzymcytochemische und quantitative Untersuchungen an normalen und alterierten Leberepithelien der Ratte. Erg. Anat. Entwgesch. 44/4 (1971)

PFEIFER, U.: Inverted diurnal rhythm of cellular autophagy in liver cells of rats fed a single daily meal. Virchows Arch. B. Zellpath. 10, 1-3 (1972)

PFEIFER, U.: Zur Stellung des lysosomalen Glycogenabbaues im hepatocellulären Stoffwechsel. Celluläre Autophagie nach intraperitonealer Injektion hypertoner Glucoselösung. Virchows Arch. B. Zellpath. 10, 108-117 (1972a)

PFEIFER, U.: Cellular autophagy and cell atraphy in the rat liver during long-term starvation. Virchows Arch. B. Zellpath. 12, 195-211 (1973)

PFEIFER, U.: Quantification of rarly occuring structures in electron microscopy
NBS Special Publ. 431, Proc. 4th Int. Congr. Stereol., 411-414 (1976 a)

PFEIFER; U.: Lysosomen und Autophagie.
Verh. dtsch. Ges. Path. 60, 28-64 (1976 b)

PFEIFER, U. und Bertling, J.: A morphometric study of the inhibition of autophagic degradation during restorative growth of liver cells in rats re-fed after starvation.
Virchows Arch. B. Cell. Path. 24, 109-120 (1977)

PFEIFER, U.: Inhibition by insulin of the formation of autophagic vacuoles in the rat liver. A morphometric approach to the kinetics of intracellular degradation by autophagy.
J. Cell. Biol. 78, 152-167 (1978)

PFEIFER, U.: Inhibited autophagic degradation of cytoplasm during compensatory growth of liver cells after patial hepatectomy.
Virchows Arch. B. Cell. Path. 30, 313-333 (1979)

PFEIFER, U.: The evaluation of large test fields for morphometric studies in electron microscopy.
Path. Res. Pract. 166, 188-202 (1980)

PHILLIPS, M. J., UNAKAR, N. J., DOORNEWAARD, G., STEINER, J. W.: Glycogen depletion in the newborn rat liver. An electron mikroscopic and histochemical study.
J. Ultrastruct. Res. 18, 142-165 (1967)

SKORNIK, O. A.: Decreased in vivo disappeareance of labelled liver protein after partial hepatectomy.
Biochem. Biophys. Res. Commun. 47, 1063-1066 (1972)

SKORNIK, O.A. and BOTBOL, V.: Role of changes in protein degradation in the growth of regenerating livers.
J. Biol. Chem. 251, 2891-2897 (1976)

SKORNIK, O. A. and CONDE, R.D.: Faster synthesis and slower degradation of liver protein during growth.
Biochem. J. 166, 115-121 (1977)

STÖCKER, E.: Der Proliferationsmodus in Niere und Leber.
Verh. Dtsch. Ges. Pathol. 50, 53-74 (1966)

SWICK, R.W. and IP, M.M.: Measurement of protein-turnover in rat liver with ^{14}C-carbonate.
J. Biol. Chem. 249, 6838-6841 (1974)

THURBER, R.E., NIMS, L.F.: Liver glycogen and blood sugar levels in X-irradiated newborn rats.
Endocrinology 70, 595-599 (1962)

WEIBEL, E.R.: Stereological principles for morphometry in electron microscopic cytology.
Int. Rev. Cytol. 26, 235-302 (1969)

WOODSIDE, K.H., WORD, W.F., MORTIMORE, G.E.: Effects of glucagon on general protein degradation and synthesis in perfused rat liver.
J. Biol. Chem. 249, 5458-5463 (1974)

Herrn Professor Dr. U. Pfeifer danke ich hezlich für die Überlassung des Themas und die stets wohlwollende Betreuung bei der Durchführung der Arbeit.

Herrn Professor Dr. H.-W. Altmann danke ich für die Arbeitsmöglichkeit an seinem Institut und die Übernahme des Korreferates.

Ferner danke ich Frau Bergeest und Frau Werder für die wertvolle technische Hilfe sowie Fräulein Nickel für die Schreibarbeiten.

L E B E N S L A U F

Jürgen Pannenbecker, geb. am 20.6.1954 in Moers/Niederrhein, als Sohn der Kaufleute Elfriede und Bernhard Pannenbecker

Schulausbildung

1960 - 1965	Volksschule in Kapellen/Krs. Moers
1965 - 1973	Staatl. Gymnasium Adolfinum zu Moers
16. 5. 1973	Reifeprüfung
1973 - 1974	Krankenhauspraktikum in Moers
1974 - 1975	Zivildienst beim Bay. Roten Kreuz in Würzburg

Medizinstudium

SS 1974	Studienbeginn an der Universität Würzburg
25. 3. 1977	Ärztliche Vorprüfung
31. 3. 1978	Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
WS 1978/79 SS 1979	Studium an der Univ. Montpellier/Frankreich
WS 1979/80	Rückkehr an die Universität Würzburg
22. 8. 1980	Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
WS 1980/81 SS 1981	medizinisches praktisches Jahr in Chirurgie und Innerer Medizin an der Missionsärztlichen Klinik Würzburg, im Fach der Kinderheilkunde an der Universitäts-Kinderklinik Würzburg
29. 10.1981	Ärztliche Prüfung
2. 11.1981	Approbation als Arzt

Jürgen Pannenbecker

Dissertationsdruck
Schmitt & Meyer

Würzburg Ludwigkai 28a Tel. 7 23 80

Dissertationsdruck
Schmitt & Meyer

Würzburg Ludwigkai 28a Tel. 7 23 80